Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie
Zeitschrift für die gesamte Biochemie
unter Mitwirkung von Fachgenossen herausg. von
Franz Hofmeister
Sonder-Abdruck aus Bd. II Heft 1 bis 3

Ein Beitrag

zur

Chemie maligner Geschwülste

II. Mitteilung

Von

Dr. Eugen Petry

(Aus der k. k. medizinischen Klinik in Graz)

Braunschweig
Druck von Friedrich Vieweg und Sohn
1902

Die „Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie“ erscheinen in zwanglosen Heften, von denen 12 einen Band von 36 Druckbogen zum Preise von M. 15,— bilden.

Die Ausgabe der Hefte erfolgt nach Mafsgabe des einlaufenden Materials in kurzen Zwischenräumen. Die Zahl der in einem Jahre erscheinenden Bände soll zwei nicht überschreiten.

Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber, Strafsburg i. E., Wimpfelingstrafse 2, zu richten.

Bei der Aufnahme von Arbeiten in die „Beiträge“ soll in erster Reihe deren biologisches Interesse, sodann Exaktheit der Durchführung, Sachlichkeit, Knappheit und Übersichtlichkeit der Darstellung mafsgebend sein. Polemische Ausführungen, welche den Rahmen einer thatsächlichen Richtigstellung überschreiten, können nicht Aufnahme finden. Der kurzen Mitteilung neuer Befunde bleibt ein besonderer Raum vorbehalten. Solchen „kürzeren Mitteilungen“ kann ein besonders rasches Erscheinen zugesichert werden.

Die Mitarbeiter erhalten ein Honorar von M. 40,— für den Druckbogen und 50 Sonder-Abzüge.

IV.

Ein Beitrag zur Chemie maligner Geschwülste.

II. Mitteilung.

Von Dr. **Eugen Petry**.

(Aus der k. k. medizinischen Klinik in Graz.)

Gelegentlich einer nach anderer Richtung zielenden Untersuchung*) vermochte ich festzustellen, dafs Auszüge aus Carcinomgewebe, welche 8 bis 14 Tage bei Zimmertemperatur unter (durch Chloroformzusatz bewirktem) Abschlufs der Fäulnis gehalten werden, einen sehr hohen Wert an nicht koagulierbaren stickstoffhaltigen Substanzen aufweisen.

Vergleichende Versuche mit frischen Präparaten zeigten, dafs diese nicht koagulablen Verbindungen, zu deren qualitativer Charakterisierung ich damals nur einige orientierende Reaktionen unternahm, während der Digestion sich auf Kosten der Menge an koagulablen Eiweifssubstanzen bilden.

Es liegt nahe, hierin einen mit der von Salkowski**) und seinen Schülern am Leber- und Muskelgewebe beschriebenen Autodigestion identischen Vorgang zu erblicken. Mit Sicherheit läfst sich dies jedoch erst nach eingehender qualitativer Charakterisierung der entstandenen Produkte dieses Vorgangs entscheiden.

Es erschien mir von Interesse, dies weiter zu verfolgen, da auf Grund des biologischen Verhaltens des Carcinomgewebes schon seit längerer Zeit die Vermutung bestanden hatte, dafs dieses Gewebe mit einem ihm besonders zukommenden, Eiweifs verdauenden Ferment ausgestattet sei (s. Fr. Müller***).

---

*) Zeitschr. f. physiolog. Chemie **27**, H. 4, 5.

) Zeitschr. f. klin. Med. **17, Suppl. 77. Schwiening, Virch. Arch. 1894, S. 444; Biondi, ibid. **144** (1896).

***) Zeitschr. f. klin. Mediz. **16**.

Ich stellte daher nunmehr Versuche zur Isolierung der Produkte der autodigestiven Spaltung des Carcinomgewebes an.

I.

Um zunächst zu erfahren, ob Leucin und Tyrosin unter den Spaltungsprodukten gegenwärtig sind, wurde ein 324 g wiegendes medulläres Mammacarcinom sorgfältig vom Mammagewebe abgetrennt, sodann mit einer Fleischmaschine zerkleinert und noch lebenswarm mit Toluolwasser versetzt und, mit einer Toluolschichte bedeckt, bei 40° gehalten. Nach einmonatlicher Digestion wurde das Extrakt abgeprefst, mit Essigsäure bis zur schwach sauren Reaktion versetzt und durch Aufkochen enteiweifst. Das Filtrat wurde sodann eingeengt bis zu starker Sirupkonsistenz. Beim Erkalten schieden sich schuppige, wachsartige Massen ab, von denen abgesogen wurde. Diese wurden aus heifsem Alkohol umkrystallisiert und es zeigte sich, dafs ihre Ausscheidungsform in einzelnen Nadeln, gröfseren typischen Nadelgarben und in radiär gestreiften Kugeln bestand. Die nach zweimaligem Umkrystallisieren schon gelbweifs gefärbte Masse entwickelte beim Verbrennen deutlich Horngeruch, gab deutliche Rotfärbung beim Erwärmen mit Millons Reagens und entwickelte beim Kochen mit Kali und nachherigem Ansäuern mit Schwefelsäure Geruch nach Valeriansäure.

Es läfst sich somit nicht zweifeln, dafs Leucin und Tyrosin vorgelegen hatten.

Es stand nun zu erwarten, dafs auch die übrigen bei der Autodigestion nachgewiesenen Spaltungsprodukte vorhanden sein würden. Ich suchte daher Vertreter der Purinreihe und der Diaminoreihe nachzuweisen.

Hypoxanthin konnte ich in den nach der oben beschriebenen Methode gewonnenen Autodigestionsprodukten eines unmittelbar nach der Sektion verarbeiteten Lebercarcinoms nachweisen.

Es wurde das enteiweifste Extrakt mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt und nun der Niederschlag nach Kossel*) mit Salpetersäure (von 1,1 Dichte) im Wasserbade gelöst und erkalten gelassen. Der beim Erkalten gebildete, aus Nadeln bestehende Niederschlag enthielt nach einmaligem Umkrystallisieren und Trocknen über Schwefelsäure 33,3 Proz. Ag (0,06475 g Substanz lieferten 0,0216 g Ag). Die mittels Salzsäure vom Silber befreite Substanz gab beim Erwärmen mit Salpetersäure einen citronengelben Fleck.

Ein drei Wochen lang autodigeriertes medulläres Mammacarcinom wurde endlich behufs Gewinnung von Lysin verarbeitet.

Die Purinbasen und das Arginin entfernte ich zunächst durch

*) Zeitschr. f. physiol. Chemie IV, 290; VII, 7.

Fällung mit $AgNO_3$ und hinterher mit $AgNO_3$ und Ba $(OH)_2$ in der von Kutscher*) und Kossel angegebenen Weise.

Nach Entfernung des Silbers durch Schwefelwasserstoff sowie Ausfällung des Baryums durch Schwefelsäure und Verjagung des Schwefelwasserstoffs wurde bei saurer Reaktion (H_2SO_4) mit Phosphor-Wolframsäure gefällt, die Fällung abgesogen, mit kaltem, schwefelsäurehaltigem Wasser gewaschen, in der üblichen Weise zerlegt und sowohl Phosphorwolframsäure als Baryt entfernt. Es resultierte eine leicht gelbliche Lösung, welche eingeengt und mit konz. wässeriger Pikrinsäurelösung gefällt wurde. Der flockige Niederschlag wandelte sich bald in ein Netz von Nadeln um; aus der trockenen Substanz konnte in der von Lawrow**) angegebenen Weise durch Zerlegung mit Salzsäure und Äther sowie Behandlung mit Salzsäure und Alkohol eine geringe Menge schöner einheitlicher Nadeln erhalten werden, welche jedoch zur Vornahme einer Analyse nicht ausreichte.

Das Filtrat vom phosphorwolframsauren Lysin wurde durch Baryt von der Phosphorwolframsäure und durch Kohlensäure vom Baryt befreit, zum dünnen Sirup eingeengt und erkalten gelassen. Während der nächsten zwei Tage schieden sich Krystallmassen ab, die aus fast reinen Tyrosinbüscheln mit sehr wenig Leucinkugeln bestanden. Durch zweimaliges Umkrystallisieren aus heifsem Wasser erhielt ich ein Präparat, das aus seidenglänzenden weifsen Nadeln bestand, schöne Millonsche Reaktion zeigte und bei 193° schmolz.

Die Mutterlauge vom Tyrosin wurde weiter eingeengt, das ausgeschiedene Leucin abgesogen, gewaschen, in Wasser gelöst, mit Kupferoxyd gekocht, die tiefblaue Lösung eingeengt, die abgeschiedenen Krystalle zweimal umkrystallisiert. Es resultierten blafsblaue Schüppchen, welche unter dem Mikroskop kaum bläulich gefärbte Kugelaggregate darstellten und bei 110° getrocknet 24,4 Proz. CuO enthielten [verlangt 24,6 Proz. für Cu $(C_6H_{12}NO_2)_2$].

0,0815 g Substanz lieferten beim vorsichtigen Glühen 0,0200 g CuO.

Es lag somit Leucinkupfer***) (F. Hofmeister) vor.

Die bei der Darstellung des Lysins gewonnene erste Fällung mit Silbernitrat wurde nach der von Kossel ausgearbeiteten Methode zur Darstellung des Xanthins benutzt. Der Niederschlag wurde in warmer Salpetersäure gelöst, nach dem Erkalten vom Hypoxanthinsilber abfiltriert und mit Ammoniak alkalisch gemacht. Es fiel ein gelbbrauner Niederschlag aus, der nach zweimaliger Umfällung auf diesem Wege sich in Globuliten abschied und 72 Proz. Ag enthielt. Nochmaliges Umkrystallisieren änderte die Zusammensetzung nicht.

0,0421 g Substanz lieferten 0,0334 metall. Silber.

Die mit Schwefelwasserstoff zerlegte Substanz färbte sich bei Erhitzung und Eindampfen mit konz. Salpetersäure gelb und auf weitere Zugabe von Ammoniak violett. Es mufs somit ein durch eine silberreichere Verbindung verunreinigtes Xanthinsilber vorgelegen haben.

---

*) Kutscher, Die Endprodukte der Trypsinverdauung. Trübner.

**) Zeitschr. f. physikal. Chemie 28.

***) Annalen der Chem. u. Pharm. 189, 16.

Man gewinnt durch diese Ergebnisse den Eindruck, dafs sich Vertreter derselben Reihen von Spaltungsprodukten des Eiweifses unter den Produkten der Autolyse des Carcinomgewebes vorfinden, wie sie durch Salkowski, Biondi, Jacoby*) und F. Müller**) bei der Autodigestion anderer Organe aufgefunden wurden.

II.

Die quantitativen Bestimmungen der durch Hitze nicht fällbaren Stickstoffsubstanzen bei Carcinom- und Kontrollgewebe hatten in meiner ersten Untersuchung ergeben, dafs das Carcinomgewebe in derselben Zeit viel ausgedehnter autodigestiv zerfällt als das Muttergewebe (Mamma), aus dem es hervorgegangen ist.

Dieser Befund findet eine Analogie in der seither von M. Jacoby***) gefundenen Thatsache, dafs die Phosphorleber viel rascher autolytisch zerfällt als normales Lebergewebe. Diese Beobachtung war geeignet, verschiedene Erscheinungen pathologischen Eiweifszerfalles zu erklären, z. B. die Ansammlung von Leucin und Tyrosin im Organe während des Lebens.

Es lag daher nahe, nachzusehen, ob die gesteigerte Autolyse beim Carcinom auch eine Ansammlung der Spaltungsprodukte im Gewebe zur Folge hat.

Zur Entscheidung dieser Frage wählte ich ein weiches, rasch gewachsenes, zum Teil zerfallendes Mammacarcinom, welches ich gleich nach der Operation in zwei Teile trennte, deren einer sofort zur Verarbeitung kam, während der andere in gewohnter Weise 14 Tage lang autodigeriert wurde.

Da ein negatives Resultat bei einem Leucindarstellungsversuch weniger Beweiskraft gehabt hätte, so beschränkte ich mich darauf, das enteiweifste Extrakt der frischen Portion auf das Vorhandensein basischer und der Purinreihe angehöriger Produkte (durch Zusatz von Phosphorwolframsäure resp. von ammon. Silberlösung) zu prüfen, was mit Rücksicht auf das reichliche Vorkommen von basischen Substanzen in Autodigestionsprodukten gewifs gerechtfertigt ist.

Die beiden Proben fielen in der frischen Partie negativ aus, während im autodigerierten Gewebe reichliche Mengen basischer Körper und Purinderivate nachzuweisen waren.

Man kann daraus wohl schliefsen, dafs die gesteigerte Autolyse im Carcinomgewebe selbst bei rasch wachsenden und rasch zerfallenden Tumoren nicht zu einer Anhäufung der Produkte im Gewebe führt.

---

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, Heft 1 und 2.

**) Verhandl. d. naturforschenden Gesellschaft in Basel 13, Heft 2.

***) Zeitschr. f. physiolog. Chem. 30, 1/2.

Neben den lokalen Vorgängen im Tumor selbst verdient die Frage Beachtung, ob die gesteigerte Autolyse Beziehungen zu pathologischen Vorgängen im Gesamtorganismus (Blut, Stoffwechsel) hat.

In dieser Hinsicht war es zunächst auch mit Rücksicht auf klinisch-diagnostische Momente von Interesse, zu untersuchen, ob das Blut Carcinomkranker Veränderungen aufweist, welche für ein Übergreifen autolytischer Vorgänge auf letztere sprechen, wie sie Jacoby als Ursache der Ungerinnbarkeit des Blutes bei Phosphorvergiftung kennen lehrte.

Zu diesem Zwecke wurden zwei Carcinomkranken gelegentlich der Operation kleine Mengen (ca. 50 cm^3) arteriellen Blutes entnommen, aseptisch aufgefangen, defibriniert und unter Toluolzusatz im Brutschrank aufbewahrt. Nach 14 Tagen wurden beide Proben verdünnt, neutralisiert (Essigsäure) und durch Aufkochen enteiweifst. Das Filtrat war bei beiden Proben frei von mit Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen und gab auch keine Biuretreaktion.

Es besteht somit auch nach dieser Hinsicht ein Unterschied gegenüber der Phosphorvergiftung und man mufs den autolytischen Vorgang bei letzterer mindestens als quantitativ gegenüber dem Carcinom wesentlich vorgeschritten bezeichnen, da es bei derselben zu Anhäufung von Spaltungsprodukten im Gewebe, Ausscheidung derselben durch den Harn und zu autolytischen Veränderungen im Blute kommt, während im Carcinomgewebe das in vermehrter Menge anwesende Ferment keinerlei derartige pathologische Erscheinungen veranlafst.

III.

Zum Schlusse stellte ich mir die Aufgabe, zu ermitteln, ob sich Beziehungen der bei der Autolyse des Carcinomgewebes entstehenden Produkte oder vorgebildeter Bestandteile des Tumors zu der von Friedrich Müller*) und Klemperer**) studierten Stoffwechselstörung Carcinomatöser in dem Sinne einer Beeinflussung des N-Gleichgewichtszustandes durch Injektionen frischer oder autodigerierter Krebsextrakte nachweisen lassen, eine Frage, welche mit Rücksicht auf die Entstehung einer ähnlich wirksamen Substanz (Thyreoglobulin) innerhalb eines bestimmten Organs des Tierkörpers gerechtfertigt erscheint.

Zu diesem Zwecke wurde ein Hund von 4200 g Körpergewicht, nachdem er durch achttägige Normalfütterung mit je zwei Würsten

*) Zeitschr. f. klin. Mediz. 16.

**) Charité-Annalen 15 (1891).

von 75 g Gewicht und annähernd konstantem N-Gehalt (im Harnkäfig) ins Gleichgewicht gebracht, der Harn unter Toluol aufgefangen und durch Auslassen des Tieres und Unterhalten eines neuen Gefäfses zur vollständigen Entleerung gebracht. Nachdem sich gezeigt hatte, dafs die täglich ausgeschiedene Stickstoffmenge konstant blieb, wurde mit Injektionen von Extrakten eines über einen Monat unter Toluol bei 40^0 digerierten Breies aus drei teils scirrhösen, teils weichen Carcinomen begonnen.

Tabelle I giebt die Ergebnisse wieder.

Tabelle I*).

Tag	Injektion	Nahrung	N im Harn	Bemerkungen
15. März	—	150	3,237	
16. „	—	326 (16.–17.)	3,41 pro Tag (16.–17.)	
17. „	—			
18. „	5 cm^3	—	—	
19. „	10 cm^3	—	—	
20. „	5 cm^3	Hunger	2,8	Erbrechen u. Nahrungsverweigerung (20.–21.)
21. „	—	„	—	
22. „	—	20 g	2,04	Kein Erbrechen, aber Nahrungsverweigerung
23. „	—	92 g	verloren	Icterus
24. „	—	143 g	„	
25. „	10 cm^3	150 g	3,95	
26. „	—	168	3,95	

Die Deutung dieses Versuchs wird durch das Erbrechen und die dadurch herbeigeführte Karenz erschwert, vor allem kann man die unmittelbaren Wirkungen der Injektion nicht mehr beurteilen. Auffällig ist immerhin, dafs in den „Hungertagen“ trotz der Injektionen die Stickstoffausscheidung entsprechend der fehlenden Nahrungszufuhr abfällt.

Die nachträgliche viertägige Fütterungsperiode (23. bis 26.) zeigt wieder ein Ansteigen der Stickstoffausfuhr auf ein Niveau, welches allerdings das ursprüngliche (vor den Injektionen) um 20 Proz. übersteigt. Da es sich dabei jedoch nicht um eine Schwankung des im Gleichgewicht befindlichen Tieres, sondern um das Erreichen eines neuen Gleichgewichtszustands nach den Karenztagen handelt, so erscheint diese Zunahme viel zu unbedeutend, als dafs man aus ihr eine deutliche, den Stoffumsatz steigernde Wirkung des injizierten Präparates folgern könnte.

*) Kot und Nahrungs-N. wurde nicht berücksichtigt.

Zum Vergleiche wurde dasselbe Tier, nachdem es zunächst mit drei der im ersten Versuch verwendeten Würste pro Tag ins Gleichgewicht gebracht war, einer viertägigen Kontrollperiode und einer viertägigen Carcinomperiode unterworfen, bei welch letzterer der frische, mit Toluolzusatz auf Eis gehaltene Preſssaft und das wässerige Extrakt eines am ersten Carcinomversuchstage exstirpierten Brustkrebses injiziert wurde.

Das Tier erhielt abends am ersten, zweiten und dritten Tag der Carcinomperiode je 10 cm³ dieses Preſssaftes unter die Rückenhaut injiziert. Toxische Erscheinungen irgend welcher Art stellten sich nicht ein, das Tier fraſs mit Hunger die ganze dargereichte Nahrung.

Bei diesem Versuche wurden täglich von der verfütterten Wurst N-Analysen ausgeführt, deren Werte eine annähernd konstante Zusammensetzung ergaben, wie aus Tabelle II ersichtlich ist. Der Harn

Tabelle II. Stickstoffgehalt der verfütterten Wurst.

	g Substanz	g N	Proz. N.
		A) Carcinomperiode.	
1. Tag	2,937	0,0689	2,34 Proz.
	2,916	0,058	1,98 „
2. „	2,5165	0,071	2,83 „
	1,313	0,034	2,1 „
3. „	1,750	0,0448	2,56 „
	1,374	0,0315	2,27 „
	2,058	0,041	2,03 „
4. „	2,003	0,041	2,07 „
	1,703	0,042	2.47 „
		Mittel	2,29 Proz.
		B) Kontrollperiode.	
1. Tag	1,828	0,047	2,58 Proz.
2. „	2,356	0,042	1,80 „
3. „	1,399	0,039	2,80 „
4. „	1,6305	0,0402	2,46 „
		Mittel	2,42 Proz.

der vier Carcinomtage wurde (ebenso wie der der Kontrollperiode) vereinigt. Der Kot wurde sieben Stunden vor resp. nach Beginn und Ende der Perioden mit fein geraspeltem Kork abgegrenzt.

Die Gesamteinfuhr betrug während der Carcinomperiode 858 g Wurst mit einem durchschnittlichen Gehalt (s. Tab. II) von 2,29 Proz. N, somit 19,648 g N.

Durch den Harn schied das Tier in dieser Periode 19,009 g N, durch den Kot 0,619 g N aus.

In der Kontrollperiode nahm das Tier 912 g Wurst mit durchschnittlich 2,42 Proz. N auf, somit im ganzen 22,0704 g N.

Durch den Harn schied es 20,64 g N, durch den Kot 0,7558 g N aus.

Man gewinnt aus diesem Versuch keineswegs einen Anhaltspunkt für die Auffassung, dafs die Injektionen den Gleichgewichtszustand des Tieres beeinflufsten, und man kann somit wohl mit Sicherheit behaupten, dafs die frischen Carcinommassen in dieser Hinsicht auf den Hundeorganismus wirksame Substanzen nicht enthalten, während man für das autodigerierte Gewebe nach dem nicht ganz eindeutigen Ausgang von Versuch I dies nur mit grofser Wahrscheinlichkeit behaupten kann.

Wenn auch das Vorkommen einer nur auf einzelne Tierspezies beschränkten Wirkungsweise physiologisch wirksamer Substanzen, mehr noch die rein spezifische Wirkung, z. B. der Hämolysine, es möglich macht, zu behaupten, dafs die gewählte Versuchsanordnung (Injektion menschlicher Extrakte auf den Hundeorganismus) nicht ausreichend wäre, um das Vorkommen derartig wirksamer Substanzen im Carcinomgewebe auf Grund dieser Versuche vollständig zu negieren, so verdient es doch festgestellt zu werden, dafs Substanzen von der auf verschiedene Tierspezies ausgedehnten Wirkungsweise des Thyreoidins im Carcinomgewebe auch nach Autodigestion desselben nicht nachweisbar sind.

Interessant ist, dafs sich, im Gegensatz hierzu, das Blut Carcinomatöser bei Injektionsversuchen Klemperers an Hunden als wirksam erwies, wobei hämolytische Vorgänge als Quelle der vermehrten Stickstoffausfuhr allerdings nicht auszuschliefsen sind; immerhin läfst sich auch dieser Befund mit meinen Resultaten in Einklang bringen, wenn man annimmt, dafs diese Substanzen nur Produkte des Lebensvorganges im Tumor darstellen, nicht aber durch einfache Extraktion oder Autodigestion aus demselben zu gewinnen sind.

Graz, November 1901.

